



# HONGOS MICROSCÓPICOS DEL NÉCTAR FLORAL



CARMEN MARTÍNEZ SÁNCHEZ  
FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SEVILLA



**Universidad de Sevilla**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

Titulación: **GRADO EN FARMACIA**

## **HONGOS MICROSCÓPICOS DEL NÉCTAR FLORAL**

Realizado por: **CARMEN MARTÍNEZ SÁNCHEZ**

Sevilla, 13/09/2019

Departamento de Biología Vegetal y Ecología

Tutor: **RAFAEL GONZÁLEZ ALBALADEJO**

Proyecto bibliográfico

## RESUMEN

En este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre la presencia y efecto de las distintas especies de levaduras que podemos encontrar en el néctar floral.

En primer lugar, se ha puesto en contexto del tema tratado presentando qué es el néctar y cómo sus características abióticas y bióticas lo describen como un lugar difícil para la vida, haciéndolo un “filtro natural” para el desarrollo de microorganismos en él, más concretamente el desarrollo de levaduras. En cambio, se conoce que algunas sí que consiguen desarrollarse por lo que se ha procedido a la identificación de ellas en diversos estudios. Se realiza entonces un resumen de la metodología empleada por los investigadores para dicha identificación.

Posteriormente se ha procedido a la realización de una recopilación de las especies encontradas descritas en los distintos artículos revisados. Seguidamente se han analizado estas especies determinando su adscripción taxonómica a filo, clase, familia y género así como se han detectado sinónimos posibles de cada especie para posteriormente organizar porcentualmente la cantidad de levaduras presentes según las diferentes categorías taxonómicas.

Tras esta recopilación, se han descrito los efectos demostrados que las levaduras han tenido sobre las características del néctar en los estudios revisados, así como estos cambios sobre el néctar han influido en las propiedades de la planta hospedadora y su relación con los polinizadores.

Finalmente, se ha abordado un punto de vista más biotecnológico donde se han investigado los principales usos en industria y medicina que han demostrado las especies más representativas de las que hemos recopilado.

**Palabras clave:** Diversidad, levaduras, néctar floral, usos biotecnológicos.

## 1. ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	5
1. El néctar.....	5
2. Desarrollo de microorganismos en el néctar.....	5
3. Las levaduras y el néctar.....	10
OBJETIVOS.....	12
METODOLOGÍA .....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
1. Principales levaduras encontradas en el néctar.....	14
1.1. Recopilación de especies de levaduras encontradas y proporción Ascomicetos/Basidiomicetos.....	14
1.2. Distribución por familias y géneros.....	15
2. Influencia de la presencia de levaduras en las características del néctar.....	18
2.1. Alteración de la composición y concentración de azúcares.....	19
2.2. Modificación de metabolitos secundarios.....	20
2.3. Producción de compuestos volátiles.....	20
2.4. Reducción de la cantidad de Nitrógeno.....	20
2.5. Aumento de la temperatura del néctar.....	21
3. Aplicaciones biotecnológicas de las levaduras del néctar. Especial mención al género <i>Metschnikowia</i> .....	21
CONCLUSIONES.....	24
BIBLIOGRAFÍA.....	25
ANEXOS.....	34

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1. EL NÉCTAR.**

El néctar floral es, según la Real Academia de la Lengua española, un “jugo azucarado, producido por los nectarios, que chupan las abejas y otros insectos”. Este “jugo” está compuesto principalmente por agua y mono/disacáridos (Lievens et al., 2014; Percival, 1961; Nicolson, 2007) y, aunque a mucho más bajas concentraciones también por aminoácidos, lípidos, minerales y vitaminas (Carter et al., 2006; Nepi, 2014; Lievens et al., 2014). El pH del néctar floral puede variar considerablemente entre especies de plantas, desde fuertemente ácidos (pH 3.0) hasta altamente alcalinos (pH 10.0) (Nicolson y Thornburg, 2007; Lievens et al., 2014). Aunque los néctares de las especies filogenéticamente diversas tienen unas composiciones de azúcares características (Ornelas et al., 2007), la concentración de azúcar de éste depende en gran medida de las condiciones abióticas ambientales locales, como la temperatura, la humedad atmosférica, las precipitaciones y la humedad del suelo (Corbet et al., 1979). Como hemos mencionado anteriormente, el néctar está compuesto en su mayoría por azúcares, principalmente sacarosa (Petanidou, 2005; Herrera et al., 2006; Canto et al., 2007) y en algunos casos, ésta se hidroliza dando lugar a concentraciones representativas de glucosa y fructosa, siendo así estos tres sus principales componentes (Petanidou, 2005; Nicolson, 2007). La finalidad por parte de la planta al fabricar este néctar en sus flores es captar la atención de ciertos animales (principalmente insectos) debido a sus características organolépticas, proporcionándoles una recompensa para que éstos desarrollen la función polinizadora.

### **2.2. DESARROLLO DE MICROORGANISMOS EN EL NÉCTAR.**

El néctar floral y los microorganismos presentes en él han sido objeto de estudio en muchos ámbitos a lo largo de la historia (p. e. Jimbo, 1926). Sin embargo, la presencia de levaduras en el néctar siempre ha sido tratadas desde un punto de vista de relación comensalista por parte de la levadura. Nada más lejos de la realidad, ya que en los últimos años se han ido abriendo nuevas vías de investigación en torno a las propiedades de estas levaduras y cómo influyen en la composición del néctar y así como su potencial biotecnológico.

Los ambientes con alto contenido en azúcares no son un lugar idóneo para el desarrollo de la vida. Esto se debe a que su dinámica, en relación a la variedad de componentes, puede variar mucho, siendo totalmente dinámicos o pudiendo llegar a encontrar una estabilidad, y a que son unos ambientes con condiciones de osmolaridad bastante complejas, impidiendo la hidratación y funciones metabólicas de muchos microorganismos. Por ello, estos ambientes pueden ser también considerados como barrera para el desarrollo de muchos microorganismos no deseados (Lievens et al., 2014).

Dentro de estos ambientes con alto contenido en azúcares encontramos el néctar floral. Es un hábitat microbiano abierto, biodiverso y dinámico relativamente efímero, ya que puede desaparecer rápidamente debido al consumo de animales o a la vida finita de la flor usualmente restringida a unos pocos días. Los microorganismos del néctar funcionan como metacomunidades, es decir, conjunto de comunidades locales que intercambian especies, con altas tasas de renovación y dinámicas de colonización-extinción (Lievens et al., 2014).

El néctar actúa así como filtro en el desarrollo de levaduras debido a que contiene factores limitantes del crecimiento de éstas (Canto et al., 2017; Carvajal et al., 2011). Estos factores pueden ser tanto de carácter abiótico como biótico (Chappell y Fukami, 2018). Los factores de carácter abiótico son (Brysch-Herzberg, 2004; Lievens et al., 2014, Carvajal et al., 2011):

- **Alta presión osmótica.** La ósmosis es un tipo especial de transporte pasivo en el cual solo las moléculas de agua son transportadas. Estas van de la zona de la membrana celular con menos concentración de soluto a aquella donde existe una mayor concentración con el objetivo de igualarlas. El néctar, como ya hemos dicho anteriormente, es un medio muy saturado de azúcares por lo que estamos en una situación de estrés osmótico para las células que allí se encuentren. Este estrés impide el desarrollo de muchos tipos de microorganismos, ya que reducen la actividad del agua y pueden, a concentraciones suficientes, generar turgencias celulares que son estresantes e inhiben la división celular (Brown, 1990; Lievens et al., 2014).

- **Disponibilidad de nutrientes.** Dependiendo el tipo de nutrientes que encontremos en el néctar, se podrán desarrollar en él unas levaduras u otras. Por ejemplo, es probable que los ambientes dominados por hexosas favorezcan a microorganismos que difieren de aquellos que prosperan en ambientes dominados por sacarosa (Rodrigues et al., 2006; Lievens et al., 2014). Los ambientes ricos en azúcar también son ideales para la fermentación, por lo que la tolerancia al etanol y la capacidad de vivir bajo limitación de oxígeno pueden ser requisitos previos para una buena capacidad competitiva en estos hábitats (Lievens et al., 2014).
- **Cantidad de Nitrógeno en el néctar.** El bajo contenido en nitrógeno característico del néctar (Carvajal et al., 2011; Nicolson et al., 2007) complica el desarrollo de levaduras que no sean nectarívoros altamente especializados (Carvajal et al., 2011).
- **Temperatura y pH.** El pH del néctar floral puede variar entre las diferentes especies de plantas, normalmente en un rango entre pH 3.0 y pH 10.0 (Nicolson and Thornburg, 2007; Lievens et al., 2014). No todas las levaduras tienen la capacidad de crecer en un mismo rango de pH, de ahí su factor limitante. Por otra parte, estudios han comprobado que la temperatura también influye en el número de levaduras desarrolladas en el néctar. En primer lugar, las levaduras dependen de los insectos polinizadores para su dispersión y estos son más activos a temperaturas más altas y, a su vez, las mismas levaduras en sí presentan una mayor tasa de crecimiento a temperaturas más altas (Brysch-Herzberg, 2004; Lievens et al., 2014).

Por su parte, los factores bióticos son (Brysch-Herzberg, 2004; Chappell y Fukami, 2017; Lievens et al., 2014; de Vega et al., 2017):

- **Osmotolerancia.** Como hemos dicho anteriormente, el néctar es un medio con unas condiciones de presión ósmotica muy altas, debido a su composición. Por ello, en él no es posible el desarrollo de cualquier microorganismo. Existen levaduras que han desarrollado un conjunto de rasgos que facilitan la supervivencia y el crecimiento en la alta presión osmótica del néctar floral (Herrera et al., 2010; Peay et al., 2012; Chappell y Fukami, 2017).

Por ejemplo, el género *Metschnikowia* crece a niveles 2 M de presión osmótica, por lo que se reduce a condiciones secas, calientes y con unas concentraciones extremas de azúcares (Brysch-Herzberg, 2004). Los ensayos de tolerancia al azúcar han demostrado que las levaduras del néctar generalmente toleran hasta un 50% (p/v) de sacarosa (Álvarez-Pérez et al., 2012; Herrera et al., 2012; Pozo et al., 2012; Álvarez-Pérez y Herrera, 2013; Halpern et al., 2013; Lenaerts et al., 2014), que es una concentración más alta incluso que las que encontramos en el néctar floral (Lievens et al., 2014). Esto demuestra el desarrollo de rasgos especiales que han ido desarrollando para la supervivencia.

- **Tolerancia o resistencia a metabolitos secundarios.** La fermentación de los azúcares y la presencia de otros microorganismos en el néctar dan lugar a la producción de unos metabolitos secundarios a los cuales, las levaduras que se desarrollan en el néctar deben ser tolerables o resistentes para poder hacerlo, igual que a las sustancias antimicrobianas que la propia planta segrega como mecanismo de defensa (Manson et al., 2007; Pozo et al., 2012; de Vega et al., 2017).
- **Relaciones tróficas.** El néctar no es un ambiente exclusivo para las levaduras. En él también se desarrollan una serie de bacterias con las que las levaduras del néctar deben desarrollar una relación de mutualismo o comensalismo para poder convivir. El género bacteriano que ha sido observado en más ocasiones parece ser el género *Acinetobacter* (Álvarez-Pérez y Herrera, 2013; Lievens et al., 2014). Estudios recientes han demostrado que las levaduras del néctar que crecen en asociación con bacterias (Álvarez-Pérez y Herrera, 2013; Jacquemyn et al., 2013a, b; Vannette et al., 2013; Lievens et al., 2014) pueden mostrar patrones complementarios de utilización de nutrientes con la bacteria (Álvarez-Pérez y Herrera, 2013; Lievens et al., 2014). Estas relaciones y las que se puedan desarrollar contra depredadores y/o virus hacen posible el desarrollo o no de estas levaduras (Lievens et al., 2014). Por desgracia, las relaciones tróficas que se dan en ambientes con altos niveles de azúcares como es el néctar no han sido muy estudiadas.



Estos factores hacen del néctar capaz de proporcionar un filtrado ambiental a las especies que se desarrollan en su interior. En cambio, no son los únicos que afectan a la presencia o no de levaduras en el néctar. Existen otros factores extrínsecos como la dispersión de levaduras y el orden de llegada al néctar. Así, el néctar en su inicio suele ser un ambiente estéril (Canto et al., 2008) o pobre en especies, por lo que necesita de un vector que lleve a estos microorganismos que luego se desarrollarán en él. Estos transportadores son en su mayoría insectos o pequeños animales que visitan e inoculan el néctar, normalmente polinizadores; aunque también pueden ser dispersados pasivamente por el viento o el agua (Brysch-Herzberg, 2004; Justé et al., 2008; Aizenberg-Gershtein et al., 2013; Lievens et al., 2014). Si los dispersores no se encuentran en sus mejores condiciones, la riqueza de especies que se desarrollará en las distintas flores disminuirá debido a la falta de este transporte (Lievens et al., 2014). Por ello, la dispersión que lleven a cabo estos transportadores es un factor fundamental en la ecología microbiana de un lugar. Se ha comprobado que las temperaturas cálidas favorecen esta dispersión ya que los dispersores están más activos (Brysch-Herzberg, 2004).

Por otra parte, el orden de llegada de las especies al néctar puede determinar también cuales serán aquellas que se desarrollen (Peay et al., 2012; Lievens et al., 2014). El fenómeno por el cual las especies que llegan antes tienen ventaja sobre las que lo hacen más tarde se conoce como “priority effects” (Chase, 2003; Mergeay et al., 2011; Lievens et al., 2014). Investigaciones recientes muestran que estos “priority effects” dependen de los parámetros medioambientales como la temperatura, la actividad del agua y pH (Tucker y Fukami, 2014; Cray et al., 2013a; Lievens et al., 2014).

Por tanto, para que una levadura sea considerada como una levadura del néctar debe, primero e imprescindible, haber sido introducida en la flor por los polinizadores u otros medios de transporte (Lievens et al., 2014). Tras haber llegado al néctar, deben ser capaces de proliferar en él, es decir, deben de generar unas capacidades especiales para su desarrollo en un medio con altísimas concentraciones de azúcares (medio con alta presión osmótica), por lo que están favorecidas las especies osmotolerantes y fermentativas (Lachance, 2006; de Vega et al., 2017); y ser capaces de resistir a la presencia de sustancias antimicrobianas producidas por las flores (Manson et al, 2007;

Pozo et al., 2012; de Vega et al., 2017). Si superan estas dos premisas principales y los factores limitantes que hemos mencionado anteriormente, su desarrollo puede ser muy fructífero, incluso hasta el orden de más  $10^5$  células por mL (de Vega et al., 2009; Herrera et al., 2009; de Vega y Herrera, 2012; de Vega et al., 2017; Lievens et al., 2014) o más de  $10^6$  (de Vega et al., 2009; Lievens et al., 2014). Esto aumenta su probabilidad de dispersarse, ya que, a más cantidad de microorganismos, mayor posibilidad de que el polinizador lo transporte (de Vega et al., 2017). Si este proceso continúa se producirá un ciclo estable (Lachance, 2011), pudiendo encontrar las mismas levaduras en distintos néctares, durante años sucesivos, del mismo lugar (de Vega et al., 2012; Herrera et al., 2014; Mittelbach et al., 2015; de Vega et al., 2017).

### 2.3. LAS LEVADURAS Y EL NÉCTAR

En los últimos años se ha comprobado que las concentraciones de los azúcares presentes en el néctar no son, como se había pensado anteriormente, dependientes de la especie de planta que lo produce, si no que depende de qué microbiota viva en él (Carvajal et al., 2011; Canto et al., 2017; Chappel y Fukami, 2017). Es decir, la presencia de unas levaduras u otras en la misma especie de planta cambia la composición de su néctar.

Las levaduras son hongos unicelulares de forma ovoide, que se reproducen por gemación o división, forman cadenas y producen enzimas capaces de descomponer diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares, en otros más sencillos mediante procesos de fermentación (rae; <https://www.biodic.net/palabra/levadura/#.XXDexigzY2w>).

Es esta capacidad fermentativa de las levaduras sobre los azúcares (principalmente conversión de sacarosa en glucosa y fructosa) la responsable de esta variación en las características del néctar comentada anteriormente. Esto ha producido un cambio a la hora de la clasificación de los néctares que anteriormente se regía por las concentraciones de los diferentes azúcares que ahora sabemos que son variables.

Pero, una vez detectada la presencia de levaduras en el néctar, la cual puede detectarse por sencillas observaciones microscópicas, ¿cuál es la metodología usada por los investigadores para identificar las diferentes especies presentes?

La metodología básica actual comienza con la recolección del material vegetal (néctar floral) seguido del cultivo microbiológico y aislamiento de las levaduras que se encuentran en el néctar. Este aislamiento se realiza mediante diluciones seriadas. Posteriormente, una vez conseguidas las diferentes colonias aisladas se pasa a la extracción del ADN. Con el ADN extraído se procede a la amplificación y secuenciación de regiones identificadoras tipo “barcode”, en hongos típicamente es el dominio D1/D2 del gen de la Subunidad Grande 26S del ADN ribosomal (Gaviria y Osorio, 2012; de Vega et al., 2018; Canto et al., 2017). Otras regiones como la comprendida por los espaciadores intergénicos ITS (“Internal Transcribed Spacer”) más la región 5.8S también se han usado recientemente (ITS1+5.8S+ITS2). Una vez obtenida la secuencia se realiza una búsqueda con algoritmos del tipo BLAST (“Basic Local Alignment Search Tool”) sobre un conjunto de secuencias tipo de cada especie depositadas en la base de datos Mycobank (<http://www.mycobank.org/>) con el fin de identificar la especie a la que pertenece dicha secuencia. Previamente al desarrollo de las herramientas moleculares se procedía a la caracterización fenotípica de las levaduras obtenidas en los cultivos (Gaviria y Osorio, 2012; de Vega et al., 2018).

La identificación de estas especies nos ha dado a conocer que la mayoría de especies de levaduras del néctar parecen ser ascomicetos (Phyllum o División Ascomycota), aunque actualmente faltan estudios que recopilen la información que se ha generado en los últimos años para adquirir una visión general de la diversidad de levaduras presente en el néctar floral. Los ascomicetos presentan preferentemente una reproducción asexual y en menor medida sexual con la característica presencia de ascas (células en forma de saco que contienen ascosporas).

El principal interés científico de las levaduras del néctar floral, además del estudio de su diversidad, ecología y evolución en sí mismos, reside en su capacidad para vivir de vida en un ambiente tan hostil como lo es el néctar. Estas levaduras presentan adaptaciones concretas para desarrollarse en hábitats donde existen altas concentraciones de azúcares, bacterias con las que vivir en simbiosis, condiciones de oxígeno y ambientes de pH muy diversos.

Estas adaptaciones especiales convierten a las levaduras del néctar en el objeto perfecto de estudio para avances y descubrimientos en el mundo de la industria y la biotecnología.

### **3. OBJETIVOS**

No obstante, los avances conseguidos recientemente en el estudio de las levaduras del néctar floral, podemos decir que es un campo de estudio que está aún en su infancia. De hecho, podemos observar que la gran mayoría de referencias citadas hasta ahora en esta Introducción son de años muy recientes, lo que indica no solo la precariedad de nuestro conocimiento en este campo sino un creciente interés por parte de la comunidad científica en el estudio de estos microorganismos.

Por ejemplo, preguntas tan básicas como el ¿cuál es el número de especies de levaduras existentes en el néctar floral? ¿cuál es su adscripción taxonómica? o ¿qué papel juegan estas levaduras en el néctar floral? aún están lejos de ser respondidas.

Con esta revisión bibliográfica pretendemos realizar una compilación de las especies de levaduras detectadas hasta la fecha en condiciones naturales que arroje algo de luz en este aspecto. Esta compilación también nos permitirá detectar si existen especies o géneros de especies más frecuentes que otros. Por otra parte, se analizarán los efectos que presentan estas levaduras sobre el néctar y con las especies o géneros detectados más frecuentemente realizaremos una búsqueda bibliográfica específica para detectar posibles usos biotecnológicos que puedan estar desarrollándose con estas especies.

#### 4. METODOLOGÍA

Para la realización de esta revisión bibliográfica se han consultado diferentes bases de datos electrónicas: Google Scholar, PubMed y Web of Science. Para la búsqueda se han utilizado como términos generales las palabras claves:

- “NECTAR YEAST”
- “FLORAL NECTAR” + “YEAST”
- “LEVADURA” + “NECTAR”

Tras la búsqueda en estas bases, se seleccionaron aquellos trabajos que se centraban en la búsqueda de levaduras en el néctar de las flores, así como de sus efectos en el néctar y de cada uno de esos trabajos se extrajeron las especies de levaduras encontradas. Como la taxonomía de levaduras es un campo muy dinámico donde las especies presentan un gran número de sinónimos, un paso posterior a la extracción de especies fue la homogenización de sus nombres consultando el nombre actualmente aceptado según la base de datos Mycobank Database (<http://www.mycobank.org/>). Esta base de datos pertenece a la International Mycological Association y su objetivo es servir de ayuda a la comunidad científica y micológica documentando las novedades micológicas nomenclaturales (nombres nuevos y combinaciones nuevas).

Una vez analizada la información y detectadas las especies más frecuentes se realizó una segunda búsqueda para profundizar en sus potenciales aplicaciones biotecnológicas. Para esta búsqueda más específica se usaron los términos:

- “METSCHNIKOWIA”
- “METSCHNIKOWIA PULCHERRIMA” + “WINE”
- “METSCHNIKOWIA” + “ANTIMICROBIAL EFFECT”
- “METSCHNIKOWIA” + “PALM OIL”

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. PRINCIPALES LEVADURAS ENCONTRADAS EN EL NÉCTAR

#### 5.1.1. Recopilación de levaduras encontradas y proporción Ascomicetos/Basidiomicetos

Tras esta búsqueda bibliográfica se encontraron 252 trabajos científicos que contenían las palabras clave seleccionadas. De estos, se descartaron 51 debido a su antigüedad (anteriores al año 2000). Seguidamente, de estos 201 restantes, sólo 17 de ellos tenían como objetivo la detección/descripción de especies de levaduras en el néctar floral descartándose los que tenían como objetivo la inoculación de levaduras en el néctar, que eran la inmensa mayoría. Con respecto a una distribución por años observamos que la mayoría de trabajos se han publicado entre los años 2004 y 2018 con un incremento paulatino en el número de trabajos publicados en años recientes (Fig. 1), lo que demuestra que es un campo de estudio novedoso que está atrayendo la atención de la comunidad científica. Del mismo modo y a pesar de su novedad, el hecho de que solo haya 17 trabajos es un claro indicativo de la escasez de regiones de la tierra que han sido exploradas y que la diversidad de levaduras del néctar floral aún deparará una gran cantidad de novedades en forma de especies que permanecen sin descubrir.

Tras la revisión bibliográfica de los diferentes documentos encontrados se ha procedido a realizar una recopilación de todas las especies encontradas en los distintos artículos (Anexo 1). A pesar del relativamente bajo número de trabajos, los resultados de esta recopilación muestran una elevada diversidad en la biota de levaduras del néctar floral habiéndose detectado la presencia de 74 especies diferentes de levaduras pertenecientes tanto a Basidiomicetos como Ascomicetos, siendo estos últimos más frecuentes (24 y 50 especies, respectivamente). Específicamente observamos que la relación cuantitativa de las especies estudiadas ha sido de un 68% de especies de levaduras pertenecientes a la división Ascomycota frente a un 32% de especies pertenecientes a la división Basidiomycota (Fig. 2).

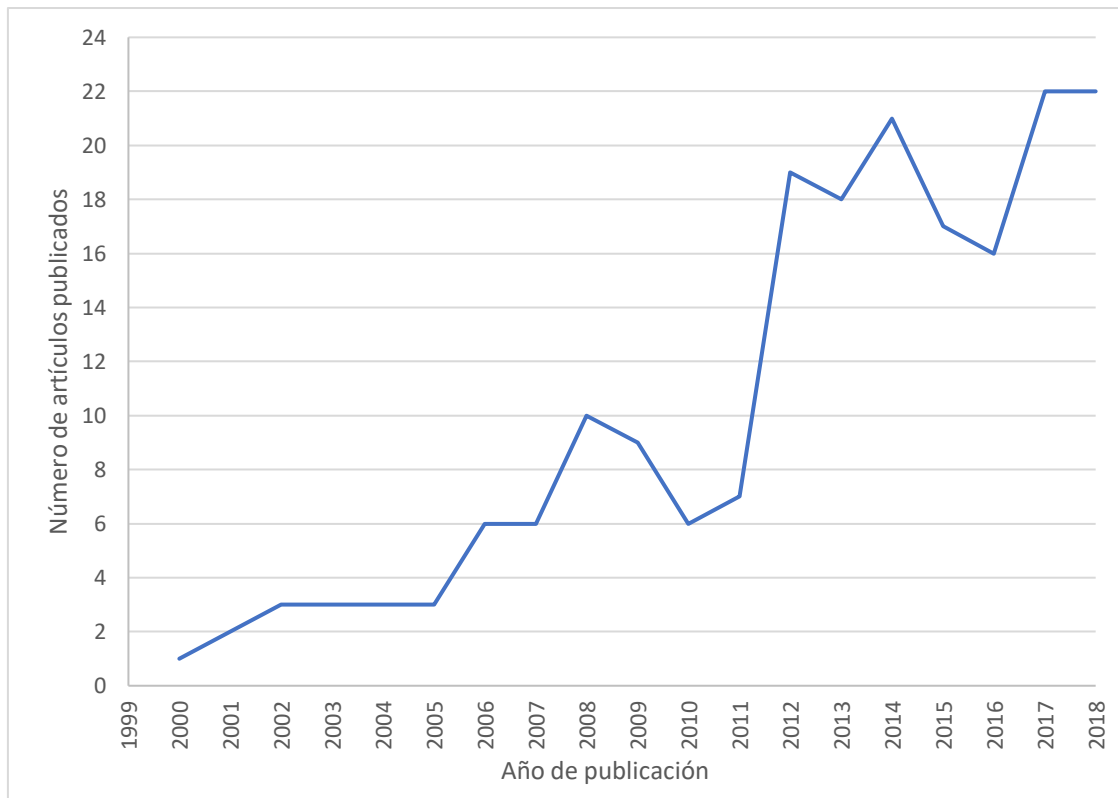


Figura 1. Relación entre años y número de artículos publicados.

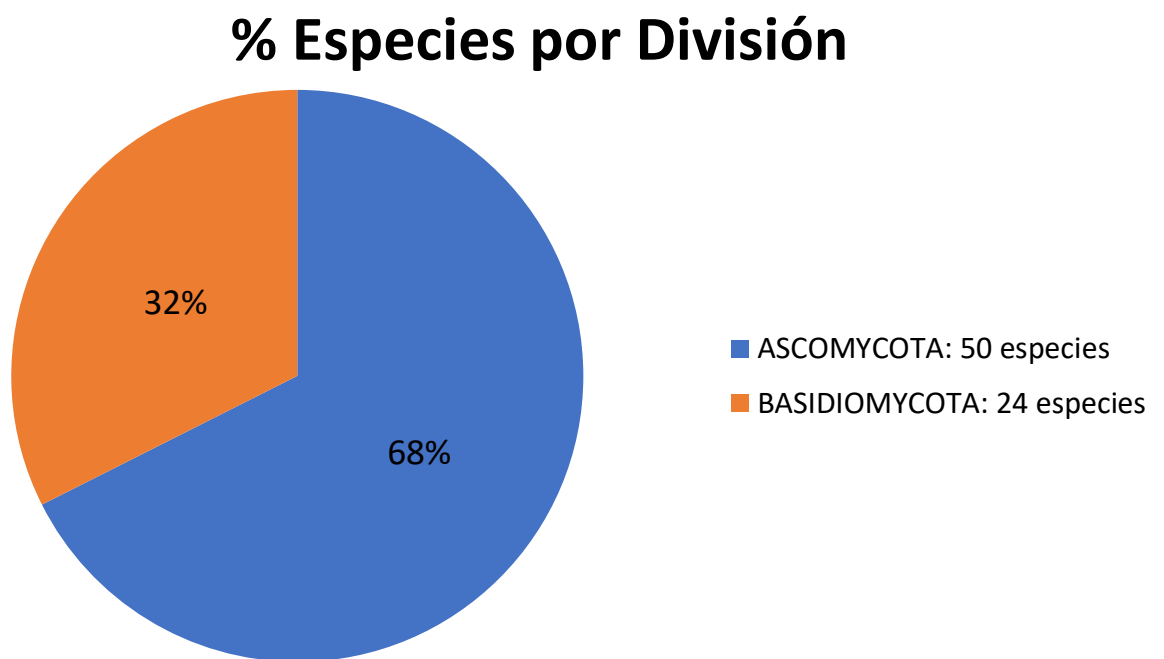


Figura 2. Relación cuantitativa entre Ascomycota y Basidiomycota.

### 5.1.2. Distribución por familias y géneros

Un análisis somero a nivel de familia sugiere que la distribución de las especies no es homogénea y que las levaduras presentes en el néctar floral se adscriben a 15 familias, aunque solo unas pocas familias tienen una elevada representación. Así, a nivel de familia, dentro de los Ascomycetos la familia que presentó una mayor diversidad de especies fueron Metschnikowiaceae (14 especies) seguido de Saccharomycetaceae (13 especies). Por su parte, dentro de los Basidiomicetos, la familia con mayor representación fue Tremellaceae (11 especies) (Figs. 3 y 4).

Del mismo modo, a nivel de género hemos detectado la presencia de especies pertenecientes a 32 géneros diferentes. Si bien la mayoría de estos géneros están representados por una única especie, lo que sugiere una escasa adaptación específica para el desarrollo de sus especies en este sustrato, detectamos cinco géneros presentes con 5 o más especies. Estos géneros con mayor diversidad fueron *Wickerhamiella*, *Hanseniospora* y *Candida* con 5 especies cada uno, *Starmerella* con 7 especies y *Metschnikowia* con 13 especies diferentes. El hecho de que estos géneros presenten una elevada diversidad de especies parece sugerir una adaptación específica para el desarrollo en ambientes hiperosmóticos como el que representa el néctar floral (Fig. 5).

El caso del género *Candida* es particular con respecto al resto de géneros. El género *Candida* es un género polifilético muy amplio de Saccharomycetales anamórficos (i.e. carentes de estadio sexual o no descubierto) (Webster y Weber, 2007). A este género se han adscrito la mayoría de especies descubiertas para las cuales no se había detectado su fase sexual (presencia de ascas). Actualmente, mediante la secuenciación de regiones específicas de ADN (comentado en Introducción) la mayoría de estas especies se están re-adscribiendo a otros géneros de teleomorfos en función de su similitud genética con independencia de la observación de ascas. Así, en nuestra revisión original detectamos la presencia de 13 especies de *Candida* en el néctar floral, que tras una revisión de la nomenclatura más reciente en Mycobank (<http://www.mycobank.org/>) pudimos comprobar como la mayoría de estas especies se han reasignado principalmente a los géneros *Starmerella* y *Wickerhamiella*.



El hecho de que 5 especies de nuestra compilación aún permanezcan dentro de *Candida* probablemente refleja el hecho de que formalmente aún no se han asignado a un género de teleomorfo alternativo en espera de estudios genéticos específicos.

Un caso similar dentro de los Basidiomicetos es el género *Cryptococcus*. En nuestra revisión de especies de levaduras detectamos la presencia de 8 especies pertenecientes a este género de anamorfos. Una revisión de la nomenclatura ha revelado como 6 de estas especies se han reasignado a los géneros *Naganishia*, *Papiliotrema* y *Vishniacozyma*.

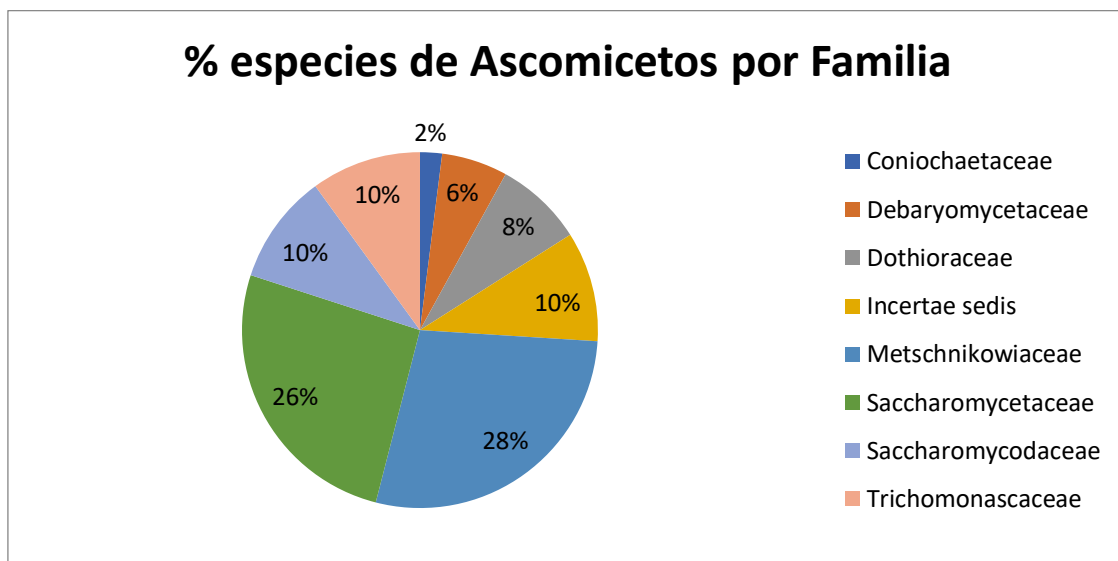


Figura 3. Porcentaje de especies por familia dentro de Ascomycetos.

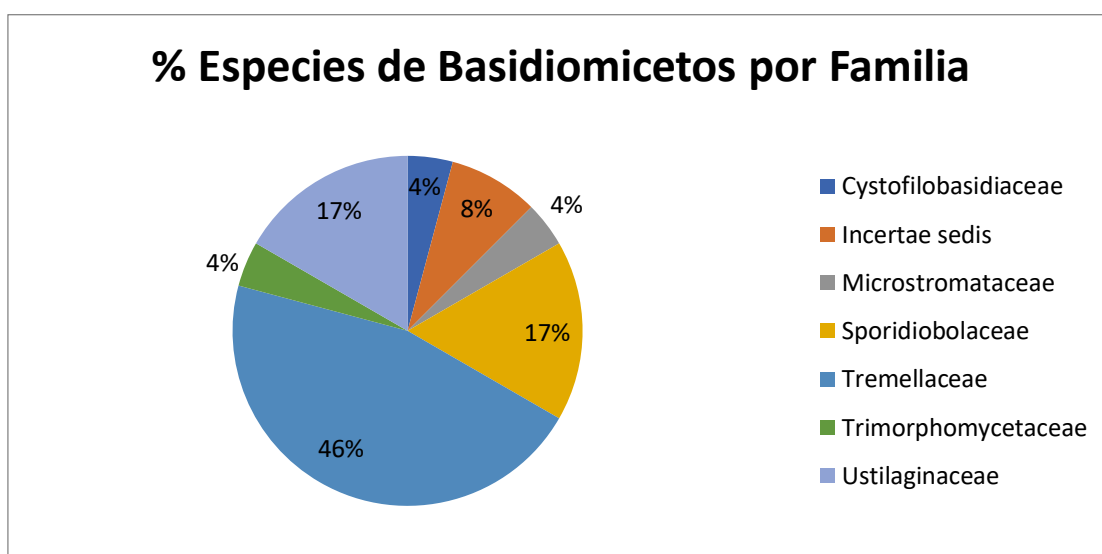


Figura 4. Porcentaje de especies por familia dentro de Basidiomicetos.

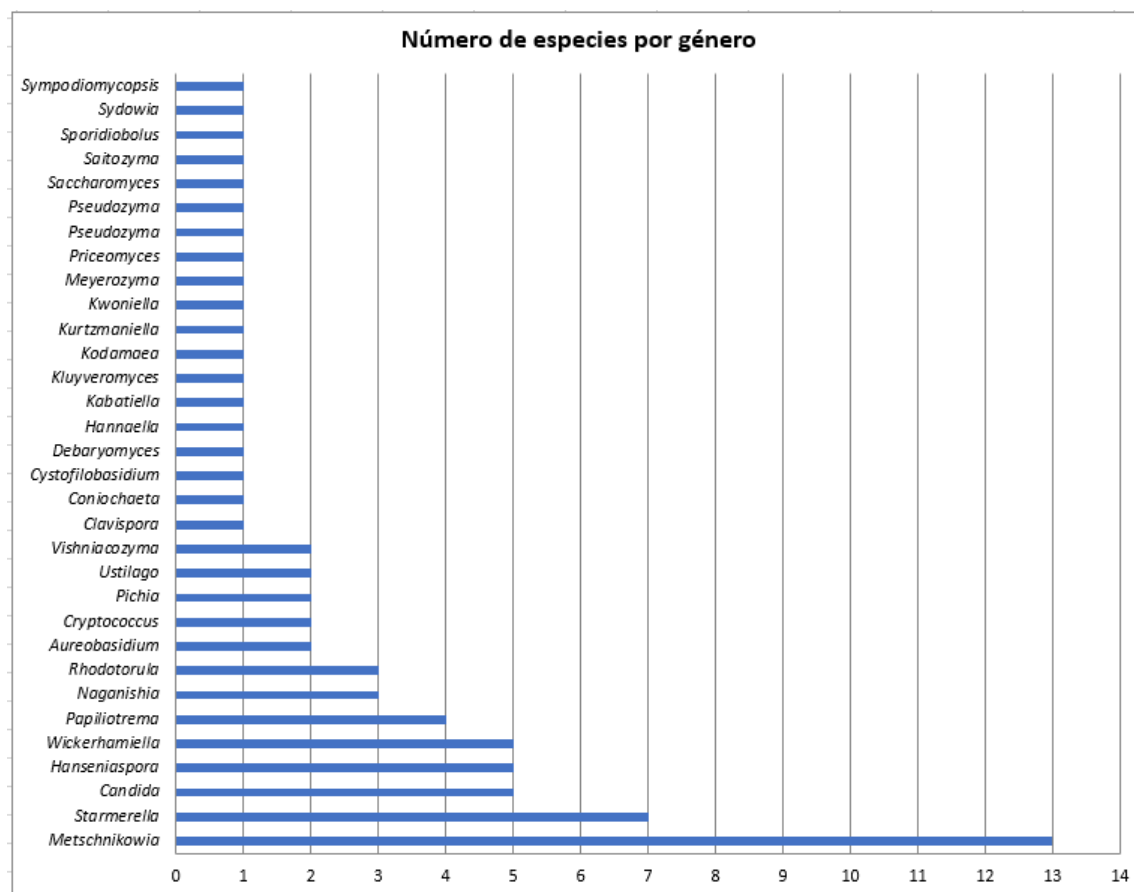


Figura 5. Número de especies por género.

## 5.2. INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE LEVADURAS EN LAS CARACTERÍSTICAS DEL NÉCTAR.

Conociendo las características principales de los microorganismos conocidos como levaduras, podemos asumir que aquellas que viven en el néctar, van a producir cambios en la composición de este, principalmente en el término de concentración de azúcares, debido a los procesos fermentativos que llevan a cabo.

Los primeros estudios realizados con este tema no podían confirmar que esto fuera cierto debido a que no había pruebas suficientes como para relacionar la presencia de levaduras con las características del néctar (Brysch-Herzberg, 2004). En cambio, los estudios más recientes sí que han ido obteniendo resultados favorables a esta teoría (Chappell y Fukami, 2018; Canto et al., 2017; Carvajal et al., 2011). A continuación recopilamos los principales efectos que las levaduras pueden ejercer sobre el néctar floral basado en las referencias bibliográficas encontradas.

**5.2.1. Alteración de la composición y concentración de azúcares** (Herrera et al., 2008; Pozo et al., 2009; Canto & Herrera, 2012; Misra et al., 2012; Canto et al., 2015; Schaeffer et al., 2015; Chappell y Fukami, 2018).

Aunque la variación de azúcares entre los distintos néctares puede no ser debida exclusivamente a una sola razón (Brysch-Herzberg, 2004), se conoce que la mayor parte de la varianza observada en la concentración de estos es debida a la interacción entre diferentes grupos de levaduras y plantas hospedadoras (Canto et al., 2017)

Estudios recientes han demostrado que un aumento en la densidad celular de levaduras en el néctar ha producido cambios en la concentración de azúcares, produciendo un “empobrecimiento” (disminución del valor nutricional) del mismo, es decir, disminuyendo sus concentraciones (Canto et al., 2017; Herrera et al., 2008; de Vega y Herrera, 2013) (Fig. 6).

Según el estudio realizado por Canto y Herrera (2017), los néctares que presentaban levaduras tenían un promedio inferior de concentraciones de sacarosa, glucosa y fructosa, que los néctares donde éstas no estaban presentes.

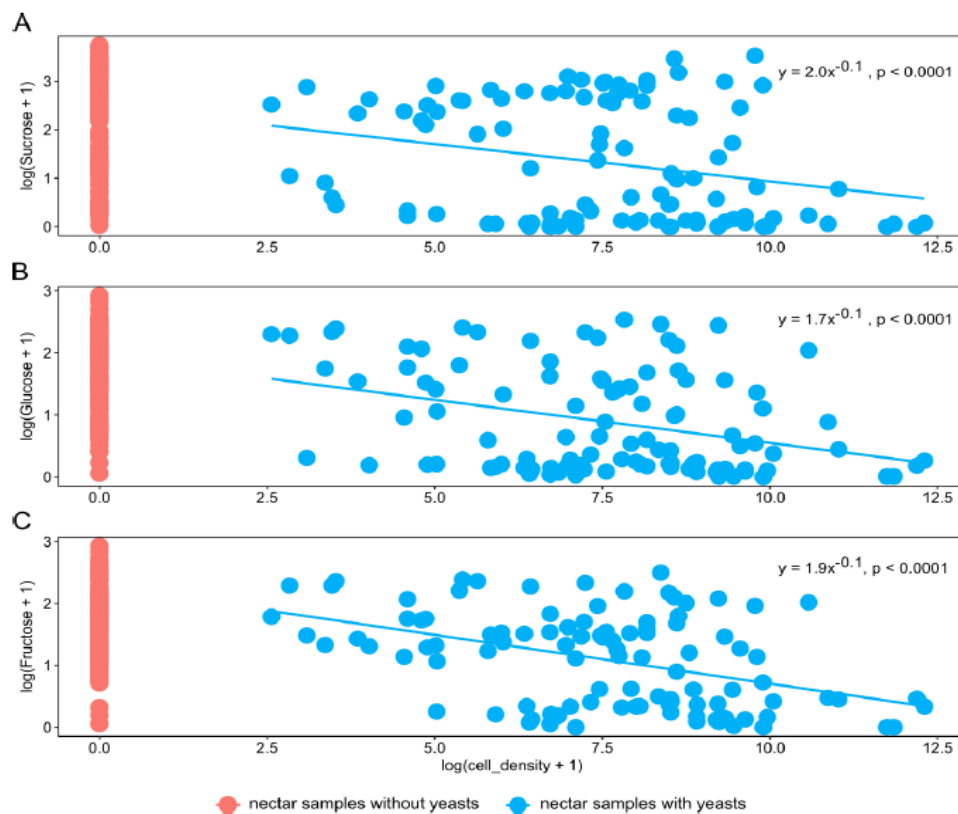


Figura 6. Relación entre los azúcares del néctar y la densidad celular (tomado de Canto et al., 2017).

Por tanto, las levaduras del néctar, sobre todo a altas concentraciones, inducen la degradación del néctar que puede resultar perjudicial para la reproducción de las plantas al ser menos atractivo para los polinizadores (Herrera et al., 2008; Carvajal et al., 2011). En cambio, existe un estudio que demuestra que el alcohol producido en el metabolismo de los azúcares por parte de las levaduras puede resultar atractivo a pequeños mamíferos polinizadores que buscan alcohol (Wiens et al., 2008; Carvajal et al., 2011).

#### **5.2.2. Modificación de metabolitos secundarios** (Vannette y Fukami, 2016).

En muchos casos, los microorganismos disminuyen las concentraciones de los metabolitos secundarios del néctar como, por ejemplo, la concentración de aucubina. Esta modificación puede alterar la relación de la planta con los polinizadores (Vannette y Fukami, 2016). También podemos encontrar indicios de metabolitos creados por parte de las levaduras (Canto et al., 2017).

#### **5.2.3. Producción de compuestos volátiles** (Golonka et al., 2014; Pozo et al., 2009; Raguso, 2004; Rering et al., 2018).

Es probable que los compuestos volátiles producidos por las levaduras sean subproductos de su metabolismo o de la fermentación del néctar. Estos compuestos pueden tener diversas funciones ecológicas. Por un lado, las levaduras del néctar producen compuestos que son antimicrobianos para evitar el desarrollo de otras especies (Peay et al., 2012; Vannette y Fukami, 2014; Mittelbach et al., 2016). Por otra parte, otra función de algunos de los compuestos volátiles que se generan es la de atraer a los polinizadores. Por ejemplo, la levadura *Metschnikowia reukaufii* produce una mezcla de compuestos volátiles que convierte más atractivo al néctar para los polinizadores, destacando su efecto sobre las abejas melíferas (Rering et al., 2018).

#### **5.2.4. Reducción de la cantidad de Nitrógeno** (Peay et al., 2012; Vannette & Fukami, 2014; Dhami et al., 2016)

El néctar en su composición estéril presenta altas cantidades de nitrógeno, factor limitante para el desarrollo de las levaduras (Carvajal et al., 2011). Por ello, para mejorar sus condiciones de vida, las levaduras del néctar ejercen un efecto de disminución de estas concentraciones (Chappell y Fukami, 2018).

**5.2.5. Aumento de la temperatura del néctar** (Herrera y Pozo, 2010; Herrera y Medrano, 2017).

En ambientes fríos, el calentamiento global producido por las levaduras puede beneficiar tanto a plantas como a polinizadores (Carvajal et al., 2011), proporcionando a estos últimos un sitio de refugio. No solo mejora las condiciones de vida de los polinizadores sino también de las otras levaduras. En el estudio realizado por Pozo et al. (2011) se comprobó que solo un 17% de las levaduras estudiadas pudieron crecer a temperaturas inferiores a 12°C. Las únicas que crecieron a bajas temperaturas fueron las diferentes especies de *Metschnikowia*.

### 5.3. APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LAS LEVADURAS DEL NÉCTAR. ESPECIAL MENCIÓN AL GÉNERO *METSCHNIKOWIA*.

Algunas de las especies obtenidas en la recolección de datos de los artículos investigados, son destacables, debido a sus características, para un futuro uso en el mundo industrial.

Por ejemplo, el género *Rhodotorula* presenta la capacidad de formar cápsulas (Martin-Mazuelos y Valverde Conde, 2006; Gaviria y Osorio, 2012) que actúan como escudo frente a ambientes adversos. A su vez, en este género también encontramos la presencia de carotenoides que les confiere una protección frente a radiaciones (Libkind et al., 2004). Estas ventajas adaptativas le proporcionan a este género un potencial biotecnológico como controlador de fitopatógenos (Gaviria y Osorio, 2012).

La especie *Aureobasidium pullulans* que presenta un alto potencial biotecnológico por su importancia como productor de polisacárido extracelular biodegradable (EPS). Este polisacárido es un biomaterial que está siendo utilizado para el envasado de alimentos y medicamentos (Singh et al., 2008; Gaviria y Osorio, 2012). También se conoce que produce un compuesto del tipo lactona que inhibe el crecimiento de ciertas especies de *Candida* (Tay et al., 2014).

Además de estos casos particulares encontramos el género *Metschnikowia*. Hemos podido comprobar tras el estudio y análisis de diversos artículos que este género es el que más presente se encuentra en el néctar floral debido a sus características: capacidad de vivir en condiciones extremas de presión osmótica (Brysch-Herzberg, 2004) y desarrollo a bajas temperaturas (Pozo et al., 2011).

Por ello, es nuestro objetivo principal de estudio a la hora de la búsqueda de aplicaciones biotecnológicas que puedan ofrecer estas levaduras del néctar.

La especie *Metschnikowia pulcherrima* es la más destacada por sus diferentes usos en el marco de la industria y la salud.

Estudios recientes han demostrado que la especie *M. pulcherrima* se encuentra presente de forma natural en la uva y forma parte del proceso de fermentación tradicional del vino, proceso espontáneo realizado por diversas especies de levaduras (Capozzi et al., 2015). Se ha demostrado que las especies de levadura que no son del género *Saccharomyces* (género usado principalmente en la fermentación del vino) son potencialmente capaces de influir en las propiedades aromáticas finales del vino (Romano et al., 2003; Capozzi et al., 2015; Kántor et al., 2015). Podemos decir que las propiedades organolépticas del vino dependen del metabolismo de las distintas levaduras, por lo que la proporción de "levaduras no *Saccharomyces*"/*Saccharomyces* será importante en las características finales de estas. Entre ellas, encontramos el aroma, el cual el género *Metschnikowia* es capaz de mejorar gracias a la producción de glucosidasas, sobre todo cuando las especies no *Saccharomyces* dominan la etapa inicial del proceso de fermentación (Fernández et al., 2000; Mendes Ferreira et al., 2001; Strauss et al., 2001; Maturano et al., 2012; Capozzi et al., 2015). El género *Metschnikowia*, más concretamente la especie *Metschnikowia pulcherrima*, produce también una alta concentración de esteres que producen un aumento en el sabor y el aroma del vino (Rodríguez et al., 2010; Sadoudi et al., 2012; Oro et al., 2014).

Por otra parte, se observó también que esta especie producía retrasos en la fermentación debido a la presencia de una actividad antimicrobiana. Esta actividad antimicrobiana es causada por la pulcherrimina, un pigmento rojizo producido por *M. pulcherrima* que se acumula en el medio de crecimiento de ésta (Kluver et al., 1953).

Este pigmento es capaz de formar quelatos con los iones hierro, lo que le proporciona actividad antibacteriana y antifúngica, ya que inmoviliza el hierro del medio, agotando el hierro del sustrato creando así un ambiente inadecuado que no permite el desarrollo de otros microorganismos. El secuestro de hierro es un mecanismo generalizado de antagonismo microbiano (Sipiczki, 2006; Kántor et al., 2015) (Figura 7).



Figura 7. Halo de inhibición del pigmento pulcherrimina sobre *Candida saitoana* (Kántor et al., 2015)

Por tanto, las cepas de *M. pulcherrima* que producen altas cantidades de pulcherrimina son de gran interés en la inhibición del crecimiento de microorganismos, entre ellos, patógenos. Por ello, este pigmento se puede considerar de gran interés en la búsqueda de antimicrobianos para humanos. Algunos estudios afirman que puede ser una buena alternativa para el tratamiento tópico de estas infecciones (Türkel y Ener, 2009; Kántor et al., 2015). Estas propiedades inhibitorias han sido probadas también frente a importantes patógenos humanos como *Listeria monocytogenes* y *Salmonella entérica*, obteniéndose buenos resultados inhibitorios frente a la proliferación de éstas (Leverentz et al., 2006), lo cual abre una nueva vía de investigación para las posibles aplicaciones terapéuticas de la especie *Metschnikowia pulcherrima*.

Existe otra línea de investigación en la que está incluida esta especie. Se trata de la búsqueda de una alternativa a la producción abusiva de aceite de palma, uno de los principales contribuyentes a la deforestación tropical. Estudios recientes han demostrado que las levaduras oleoginosas (dentro de las que se encuentra *M. pulcherrima* y *M. gruessii*) presentan la capacidad de catabolizar una amplia gama de mono y oligosacáridos ideales para la producción de aceite a partir de lignocelulosa. Esta alternativa está en proceso de investigación ya que a día de hoy el costo de producción sigue siendo demasiado alto, pero se presenta como potencialmente factible para los próximos años (Whiffin et al., 2016)

## 6. CONCLUSIONES

Tras la realización de la compilación de especies realizada podemos destacar la clara prevalencia entre las levaduras del néctar de especies de Ascomicetos frente a Basidiomicetos. Dentro de los Ascomicetos cabe destacar las familias *Metschnikowiaceae* y *Saccharomycetaceae*, ya que entre ambas constituyen más del 50% de las especies encontradas de este filo. La presencia del género *Candida* ha sido también destacable pero con la premisa de ser un género polifilético, que está todavía por re-asignar a muchas de sus especies.

Por otra parte, tras la compilación se han estudiado los posibles efectos que tiene la presencia de estas levaduras en el néctar que habitan. Se ha demostrado que la presencia de estas influye altamente en la composición y concentración de azúcares dentro del néctar, producida por sus capacidades fermentativas.

También se conoce que estas levaduras tienen la capacidad de producir unos compuestos volátiles que son atractores para los polinizadores mejorando con ello la dispersión de la planta hospedadora. Presentan también la capacidad de modificar algunos metabolitos secundarios del néctar y la de disminuir las concentraciones de nitrógeno presentes. Otra capacidad de estas levaduras es la de aumentar la temperatura de la planta hospedadora proporcionando así un ambiente más idóneo para los polinizadores e incluso las propias levaduras.

Finalmente, se han buscado las principales aplicaciones biotecnológicas de las especies más destacadas en la compilación, sobre todo de las especies del género *Metschnikowia*. La especie *M. pulcherrima* ha destacado entre otras por sus usos tanto en la industria vinícola, al estar presente en los procesos iniciales de fermentación espontánea del vino, como por su posible aplicación como antimicrobiano debido a la producción de un pigmento llamado pulcherrimina que presenta la capacidad de inhibir el desarrollo de otros microorganismos. También se ha encontrado el posible uso de esta especie y otra del mismo género, *M. gruessii*, como alternativa en la producción de un aceite sustitutivo al aceite de palma.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

Aizenberg-Gershtein, Y., Izhaki, I., and Halpern, M. Do honeybees shape the bacterial community composition in floral nectar? PLoS ONE. 2013; 8: e67556.

Álvarez-Pérez, S., Herrera, C.M., and de Vega, C. Zooming-in on floral nectar: a first exploration of nectar associated bacteria in wild plant communities. FEMS Microbiol Ecol. 2012; 80: 591–602.

Álvarez-Pérez, S., Lievens, B., Jacquemyn, H., and Herrera, C.M. *Acinetobacter nectaris* sp. nov. and *Acinetobacter boissieri* sp. nov., two novel bacterial species isolated from floral nectar of wild Mediterranean insect-pollinated plants. Int J Syst Evol Microbiol. 2013; 63: 1532–1539.

Axelsson, L., Franzén, M., Ostwald, M., Berndes, G., Lakshmi, G., Ravindranath, NH. Perspective: Jatropha cultivation in southern India: Assessing farmers' experiences. Biofuels, Bioprod Biorefining. 2012; 6(3):246–56.

BioScripts. BioDic [en línea]. Disponible en <https://www.biodic.net/palabra/levadura/#.XXDexigzY2w>

Brown, A.D. Microbial Water Stress Physiology. Principles and Perspectives. Chichester, UK: John Wiley and Sons. 1990.

Brysch-Herzberg, M. Ecology of yeasts in plant-bumblebee mutualism in Central Europe. FEMS Microbiol Ecol. 2004; 50(2): 87–100.

Canonico, L., Comitini, F., Ciani, M. *Metschnikowia pulcherrima* Selected Strain for Ethanol Reduction in Wine: Influence of Cell Immobilization and Aeration Condition. Foods. 2019; 8(9): 378.

Canto, A., Herrera, C.M., García, I.M., García, M., Bazaga, P. Comparative effects of two species of floricolous *Metschnikowia* yeasts on nectar. An del Jard Bot Madrid. 2015;72(1):1–5.

Canto, A., Herrera, C.M., Rodriguez, R. Nectar-living yeasts of a tropical host plant community: Diversity and effects on community-wide floral nectar traits. PeerJ. 2017; 2017(7): 1–22.

Canto, A., & Herrera, C. M. Micro-organisms behind the pollination scenes: Microbial imprint on floral nectar sugar variation in a tropical plant community. *Annals of Botany*. 2012; 110(6): 1173–1183.

Canto, A., Herrera, C. M., García, I. M., García, M., & Bazaga, P. Comparative effects of two species of floricolous *Metschnikowia* yeasts on nectar. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*. 2015; 72(1): e019.

Canto, A., Herrera, C.M., Medrano, M., Pérez, R., and García, I.M. Pollinator foraging modifies nectar sugar composition in *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae): an experimental test. *Am J Bot*. 2008; 95: 315–320.

Canto, A., Pérez, R., Medrano, M., Castellanos, M.C., and Herrera, C.M. Intraplant variation in nectar sugar composition in two *Aquilegia* species (Ranunculaceae): contrasting patterns under field and greenhouse conditions. *Ann Bot*. 2007; 99: 653–660.

Capozzi, V., Garofalo, C., Chiriatti, M.A., Grieco, F., Spano, G. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine. *Microbiol Res* [Internet]. 2015; 181:75–83.

Carter, C., Shafir, S., Yehonatan, L., Palmer, R.G., and Thornburg, R. A novel role for proline in plant floral nectars. *Naturwissenschaften*. 2006; 93: 72–79.

Carvajal, E.J., Libkind, D., Isabel, A., Ubeda, J., Portero, P., Roberts, I., et al., Yeasts Biodiversity and Its Significance: Case Studies in Natural and Human-Related Environments, Ex Situ Preservation, Applications and Challenges. En: Oscar Grillo, editor. *Changing Diversity in Changing Environment*. 2011. p.55-86.

Chappell, C.R., Fukami, T. Nectar yeasts: a natural microcosm for ecology. *Yeast*. 2018; 35(6): 417–23.

Chase, J.M. Community assembly: when should history matter? *Oecologia*. 2003; 136: 489–498.

Corbet, S.A., Willmer, P.G., Beament, J.W.L., Unwin, D.M., and Prys-Jones, O.E. Post-secretory determinants of sugar concentration in nectar. *Plant Cell Environ.* 1979; 2: 293–308.

Cray, J.A., Bell, A.N.W., Bhaganna, P., Mswaka, A.Y., Timson, D.J., and Hallsworth, J.E. The biology of habitat dominance; can microbes behave as weeds? *Microb Biotechnol.* 2013; 6: 453–492.

de Vega, C., Albaladejo, R.G., Guzmán, B., Steenhuisen, S.L., Johnson, S.D., Herrera, C.M., et al., Flowers as a reservoir of yeast diversity: description of *Wickerhamiella nectarea* f.a. sp. nov., and *Wickerhamiella natalensis* f.a. sp. nov. from South African flowers and pollinators, and transfer of related *Candida* species to the genus *Wickerhamiella* as new combinations. *FEMS Yeast Res.* 2017; 17(5): 1–11.

de Vega, C., Albaladejo, R.G., Lachance, M.A. *Metschnikowia maroccana* f.a., sp. nov., a new yeast species associated with floral nectar from Morocco. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2018; 68(6): 2028–35.

de Vega, C., Guzman, B., Lachance, M.A. et al., *Metschnikowia proteae* sp nov., a nectarivorous insect-associated yeast species from Africa. *Int J Syst Evol Micr.* 2012; 62: 38–45.

de Vega, C., Herrera, C.M., Johnson, S.D. Yeasts in floral nectar of some South African plants: quantification and associations with pollinator type and sugar concentration. *S Afr J Bot.* 2009; 75: 798–806.

de Vega, C., Herrera, C.M. Relationships among nectar–dwelling yeasts, flowers and ants: patterns and incidence on nectar traits. *Oikos.* 2012; 121:1878–88.

Dhami, M. K., Hartwig, T., & Fukami, T. Genetic basis of priority effects: Insights from nectar yeast. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences.* 2016; 283(1840): 1455.

Fernández, M., Ubeda, J.F., Briones, A.I., Typing of non-saccharomyces yeasts with enzymatic activities of interest in wine-making. *Int. J. Food microbiol.* 2000; 59 (1–2): 29–36.

Golonka, A. M., Johnson, B. O., Freeman, J., & Hinson, D. W. Impact of nectarivorous yeasts on *Silene caroliniana*'s scent. *Eastern Biologist*. 2014; 3: 26.

Halpern, M., Fridman, S., Atamna-Ismaeel, N., and Izhaki, I. *Rosenbergiella nectarea* gen. nov. sp. nov., in the family Enterobacteriaceae, isolated from floral nectar. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013; 63: 4259–4265.

Herrera, C.M., Pozo, M.I., Bazaga, P. Nonrandom genotype distribution among floral hosts contributes to local and regional genetic diversity in the nectar–living yeast *Metschnikowia reukaufii*. *FEMS Microbiol Ecol*. 2014; 87: 68–75.

Herrera, C. M., & Medrano, M. Pollination consequences of simulated intrafloral microbial warming in an early-blooming herb. *Flora*. 2017; 232: 142–149.

Herrera, C. M., & Pozo, M. I. Nectar yeasts warm the flowers of a winter-blooming plant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 2010; 277: 1827–1834.

Herrera, C. M., García, I. M., & Pérez, R. Invisible floral larcenies: Microbial communities degrade floral nectar of bumble bee-pollinated plants. *Ecology*. 2008; 89(9): 2369–2376.

Herrera, C.M., Pérez, R., and Alonso, C. Extreme intraplant variation in nectar sugar composition in an insect-pollinated perennial herb. *Am J Bot*. 2006; 93: 575–581.

Herrera, C.M., Pozo, M.I., and Bazaga, P. Jack of all nectars, master of most: DNA methylation and the epigenetic basis of niche width in a flower-living yeast. *Mol Ecol*. 2012; 21: 2602–2616.

Index Fungorum [en línea]. Disponible en <http://www.indexfungorum.org/Names/Names.asp>

Jacquemyn, H., Lenaerts, M., Brys, R., Willems, K.A., and Lievens, B. Among-population variation in microbial community structure in the floral nectar of the beepollinated forest herb *Pulmonaria officinalis* L. *PLoS ONE*. 2013; 8: e56917.

Jimbo, T. Yeasts isolated from flower nectar. *Scientific Report of Tohoku Imperial University*. 1926; 2: 161–182.

Justé, A., Lievens, B., Frans, I., Klingeberg, M., Michiels, C.W., and Willems, K.A. Present knowledge of the bacterial microflora in the extreme environment of sugar thick juice. *Food Microbiol.* 2008; 25: 831–836.

Kántor, A., Hutková, J., Petrová, J., Hleba, L., Kačániová, M. Antimicrobial activity of pulcherrimin pigment produced by *Metschnikowia pulcherrima* against various yeast species. *J Microbiol Biotechnol Food Sci.* 2016; 05(03): 282–5.

Lachance, M.A. Yeast biodiversity: how many and how much? In: Rosa CA, Peter G (eds.) *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Berlin: Springer. 2006; 1–9.

Lenaerts, M., Álvarez-Pérez, S., de Vega, C., Van Assche, A., Johnson, S.D., Willems, K.A., et al., *Rosenbergiella australoborealis* sp. nov., *Rosenbergiella collisarenosi* sp. nov. and *Rosenbergiella epipactidis* sp. nov., three novel bacterial species isolated from floral nectar. *Syst Appl Microbiol.* 2014; 37: 402–411.

Libkind, D., Moliné, M. and Vanbroock, M. Posibles mecanismos de fotoprotección en levaduras. *Revista electrónica de radiobiología.* 2004; 4: 84–88.

Lievens, B., Hallsworth, J.E., Pozo, M.I., Belgacem, Z. Ben, Stevenson, A., Willems, K.A., et al., Microbiology of sugar-rich environments: Diversity, ecology and system constraints. *Environ Microbiol.* 2015; 17(2): 278–98.

Martin-Mazuelos, E. and Valverde-Conde, A. Criptococosis: diagnóstico microbiológico y estudio de la sensibilidad in vitro. *Hospital universitario de Valme.* 2006; 5

Maturano, Y.P., Rodríguez Assaf, L.A., Toro, M.E., Nally, M.C., Vallejo, M., Castellanos de Figueroa, L.I., et al., 2012. Multi-enzyme production by pure and mixed cultures of *saccharomyces* and non-*saccharomyces* yeasts during wine fermentation. *Int. J. Food microbiol.* 2012; 155 (1–2): 43–50.

Mendes Ferreira, A., Clímaco, M.C., Mendes Faia, A. The role of non-*saccharomyces* species in releasing glycosidic bound fraction of grape aroma components—a preliminary study. *J. Appl. Microbiol.* 2001; 91 (1): 67–71.

Mergeay, J., De Meester, L., Eggermont, H., and Verschuren, D. Priority effects and species sorting in a long paleoecological record of repeated community assembly through time. *Ecology*. 2011; 92: 2267–2275.

Micobank database. Fungal databases, nomenclature & species bank, [en línea]. Disponible en <http://www.mycobank.org/>

Misra, S., Raghuwanshi, S., Gupta, P., Dutt, K., & Saxena, R. K. Fermentation behavior of osmophilic yeast *Candida tropicalis* isolated from the nectar of *Hibiscus rosa-sinensis* flowers for xylitol production. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2012; 101(2): 393–402.

Mittelbach, M., Yurkov, A.M., Nocentini, D. et al., Nectar sugars and bird visitation define a floral niche for basidiomycetous yeast on the Canary Islands. *BMC Ecol*. 2015; 15:2.

Mittelbach, M., Yurkov, A. M., Stoll, R., & Begerow, D. Inoculation order of nectar-borne yeasts opens a door for transient species and changes nectar rewarded to pollinators. *Fungal Ecology*. 2016; 22: 90–97.

NCBI. National Center for Biotechnology Information. [en línea]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Nepi, M. Beyond nectar sweetness: the hidden ecological role of non-protein amino acids in nectar. *J Ecol*. 2014; 102: 108–115.

Nicolson, S.W. Nectar consumers. In *Nectaries and Nectar*. En: Nicolson, S.W., Nepi, M., and Pacini, E. (eds). Dordrecht, the Netherlands: Springer. 2007. pp. 289–342.

Nicolson, S.W., and Thornburg, R.W. Nectar chemistry. In *Nectaries and Nectar*. En: Nicolson, S.W., Nepi, M., and Pacini, E. (eds). Dordrecht, The Netherlands: Springer. 2007. pp. 215–264.

Ornelas, J.F., Ordano, M., De-Nova, A.J., Quintero, M.E., and Garland, T. Phylogenetic analysis of interspecific variation in nectar of hummingbird-visited plants. *J Evol Biol*. 2007; 20: 1904–1917.

Pawlikowska, E., James, S.A., Breierova, E., Antolak, H., Kregiel, D. Biocontrol capability of local *Metschnikowia* sp. isolates. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol.* 2019; 0123456789.

Peay, K. G., Belisle, M., & Fukami, T. Phylogenetic relatedness predicts priority effects in nectar yeast communities. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences.* 2012; 279: 749–758.

Percival, M.S. Types of nectar in angiosperms. *New Phytol.* 1961; 60: 235–281.

Petanidou, T. Sugars in Mediterranean floral nectars: an ecological and evolutionary approach. *J Chem Ecol* 2005; 31: 1065–1088.

Pozo, M.I., de Vega, C., Canto, A., Herrera, C.M. Presence of yeasts in floral nectar is consistent with the hypothesis of microbial-mediated signaling in plant-pollinator interactions. *Plant Signal Behav.* 2009; 4(11): 1102–4.

Pozo, M.I., Herrera, C.M., Lachance, M.A., Verstrepen, K., Lievens, B., Jacquemyn, H. Species coexistence in simple microbial communities: unravelling the phenotypic landscape of co-occurring *Metschnikowia* species in floral nectar. *Environ Microbiol.* 2016; 18(6): 1850–62.

Pozo, M.I., Lachance, M.A., Herrera, C.M. Nectar yeasts of two southern Spanish plants: the roles of immigration and physiological traits in community assembly. *FEMS Microbiol Ecol.* 2012; 80:281–93.

Pozo, M. I., de Vega, C., Canto, A., & Herrera, C. M. Presence of yeasts in floral nectar is consistent with the hypothesis of microbial- mediated signaling in plant-pollinator interactions. *Plant Signaling & Behavior.* 2009; 4(11): 1102–1104.

Pozo, M.I., Lachance, M.A., and Herrera, C.M. Nectar yeasts of two southern Spanish plants: the roles of immigration and physiological traits in community assembly. *FEMS Microbiol Ecol.* 2012; 80: 281–293.

PubMed. US National Library of Medicine National Institutes of Health [en línea]. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Raguso, R. A. Why are some floral nectars scented? *Ecology*. 2004; 85(6): 1486–1494.

Rering, C. C., Beck, J. J., Hall, G. W., McCartney, M. M., & Vannette, R. L. Nectar-inhabiting microorganisms influence nectar volatile composition and attractiveness to a generalist pollinator. *New Phytologist*. 2018; 220(3): 750-759.

Rodrigues, F., Ludovico, P., and Leao, C. Sugar metabolism in yeasts: an overview of aerobic and anaerobic glucose catabolism. In *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Ed: Rosa, C.A. and Péter, G. (eds). Berlin, Germany: Springer. 2006; pp. 101–121.

Schaeffer, R. N., Vannette, R. L., & Irwin, R. E. Nectar yeasts in *Delphinium nuttallianum* (Ranunculaceae) and their effects on nectar quality. *Fungal Ecology*. 2015; 18: 100–106.

Singh, R.S, Saini, G., Kennedy, J. Pullulan: microbial sources, production and applications. *Carbohydrate polymers*. 2008; p. 515–531

Sipiczki, M. *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. *Applied and environmental microbiology*. 2006; 72 (10): 6716-6724.

Tucker, C.M., and Fukami, T. Environmental variability counteracts priority effects to facilitate species coexistence: evidence from nectar microbes. *Proc Biol Sci*. 2014; 281: 20132637.

Vannette, R.L., Fukami, T. Historical contingency in species interactions: towards niche-based predictions. *Ecology Letters*. 2014; 17: 115–124.

Vannette, R. L., & Fukami, T. Historical contingency in species interactions: Towards niche-based predictions. *Ecology Letters*. 2014; 17(1): 115– 124.

Vannette, R. L., & Fukami, T. Nectar microbes can reduce secondary metabolites in nectar and alter effects on nectar consumption by pollinators. *Ecology*. 2016; 97(6): 1410–1419.



Vannette, R.L., Gauthier, M.P.L., and Fukami, T. Nectar bacteria, but not yeast, weaken a plant-pollinator interaction. *Proc Biol Sci.* 2013; 280: 20122601.

Webster J. y Weber RWS. *Introduction to fungi*, third edition. Cambridge university press. Cambridge, UK.

Wiens, F., Zitzmann, A., Lachance, M.A., Yegles, M., Pragst, F., Wurst, F.M., Von Holst, D., Guan, S.L., Spanagel, R. Chronic intake of fermented floral nectar by wild treeshrews. *Proceedings of the National Academic of Sciences.* 2008; 105: 10426–10431.

LEVADURAS QUE SE ENCUENTRAN EN EL NÉCTAR FLORAL	FILO	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	Sinónimos
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary & Löwenthal) G. Arnaud	Ascomycota	Dothideomycetes		Dothioraceae	<i>Aureobasidium</i>	
<i>Aureobasidium sp.</i>	Ascomycota	Dothideomycetes		Dothioraceae	<i>Aureobasidium</i>	
<i>Candida asparagi</i> F.Y. Bai & H.Z. Lu	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Incertae sedis	<i>Candida</i>	
<i>Candida bentonensis</i> Kurtzman	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Incertae sedis	<i>Candida</i>	
<i>Candida corydalis</i> N.H. Nguyen, S.O. Suh & M. Blackw.	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Incertae sedis	<i>Candida</i>	
<i>Candida leandrae</i> Ruivo, Pagnocca, Lachance & C.A. Rosa	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Incertae sedis	<i>Candida</i>	
<i>Candida orthopsilosis</i> Tavanti, A. Davidson, Gow, M. Maiden & Odds	Ascomycota	Saccharomycetes	Saccharomycetales	Incertae sedis	<i>Candida</i>	
<i>Clavispora lusitaniae</i> Rodr. Mir.	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Clavispora</i>	
<i>Coniochaeta leucoplaca</i> Cain, R.F.	Ascomycota	Sordariomycetes	Coniochaetales	Coniochaetaceae	<i>Coniochaeta</i>	
<i>Cryptococcus heveanensis</i> Baptist & Kurtzman	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Cryptococcus</i>	
<i>Cryptococcus sp.</i>	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Cryptococcus</i>	
<i>Cystofilobasidium capitatum</i> Fell, I.L. Hunter & Tallman) Oberw. & Bandoni	Basidiomycota	Tremellomycetes		Cystofilobasidiaceae	<i>Cystofilobasidium</i>	
<i>Debaryomyces hansenii</i> (Zopf) Lodder & Kreger-van Rij	Ascomycota	Saccharomycetes		Debaryomycetaceae	<i>Debaryomyces</i>	
<i>Hannaella siamensis</i> Kaewwich., Jindam., Am-In & Limtong	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Incertae sedis	<i>Hannaella</i>	
<i>Hanseniaspora osmophila</i> (Niehaus) Phaff, M.W. Mill. & Shifrine	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora</i>	
<i>Hanseniaspora sp.</i>	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora</i>	
<i>Hanseniaspora thailandica</i> Jindam., Ninomiya, Limtong, H. Kawas. & Nakase	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora</i>	
<i>Hanseniaspora uvarum</i> (Niehaus) Shehata, Mrak & Phaff	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora</i>	
<i>Hanseniaspora valbyensis</i> Klöcker	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycodaceae	<i>Hanseniaspora</i>	

<i>Kabatiella microsticta</i> Bubák	Ascomycota	Dothideomycetes		Dothioraceae	<i>Kabatiella</i>	
<i>Kluyveromyces dobzhanskii</i> (Shehata, Mrak & Phaff) Van der Walt	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Kluyveromyces</i>	
<i>Kodamaea ohmeri</i> (Etchells & T.A. Bell) Y. Yamada, Tom. Suzuki, M. Matsuda & Mikata	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Kodamaea</i>	
<i>Kurtzmaniella cleridarum</i> Lachance & Starmer	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Kurtzmaniella</i>	
<i>Macalpinomyces spermophorus</i> (Berk. & M.A. Curtis ex de Toni) Vánky	Basidiomycota	Ustilaginomycetes	Ustilaginales	Ustilaginaceae	<i>Pseudozyma</i>	<i>Pseudozyma tsukubaensis</i>
<i>Kwoniella mangrovensis</i> Statzell, Belloch & Fell	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Incertae sedis	<i>Kwoniella</i>	
<i>Metschnikowia caudata</i> C. Vega, B. Guzmán & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia drakensbergensis</i> C. Vega, B. Guzmán & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia gruessii</i> Gim.-Jurado	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia ipomoeae</i> (Lachance, C.A. Rosa, Starmer & J.M. Bowles) Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia koreensis</i> S.G. Hong, J. Chun, H.W. Oh & Bae	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia lachancei</i> Gim.-Jurado, Kurtzman, Starmer & Spenc.-Mart.	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia lochheadii</i> Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia maroccana</i> C. Vega, Albaladejo & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia proteae</i> C. Vega, B. Guzmán, Lachance & C.M. Herrera	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> Pitt & M.W. Mill.	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	

<i>Metschnikowia rancensis</i> (C. Ramírez & A. González) Kurtzman, Robnett & Basehoar	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	<i>Candida rancensis</i>
<i>Metschnikowia reukaufii</i> Pitt & M.W. Mill.	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Metschnikowia</i> sp.	Ascomycota	Saccharomycetes		Metschnikowiaceae	<i>Metschnikowia</i>	
<i>Meyerozyma guilliermondii</i> (Wick.) Kurtzman & M. Suzuki	Ascomycota	Saccharomycetes		Debaryomycetaceae	<i>Meyerozyma</i>	
<i>Naganishia albida</i> (Saito) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Naganishia</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>Naganishia globosa</i> Goto	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Naganishia</i>	<i>Cryptococcus saitoi</i>
<i>Naganishia liquefaciens</i> (Saito & M. Ota) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Naganishia</i>	
<i>Papiliotrema flavescens</i> (Saito) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	<i>Papiliotrema</i>	<i>Cryptococcus flavescens</i>
<i>Papiliotrema laurentii</i> (Kuff.) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	<i>Papiliotrema</i>	<i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>Papiliotrema nemorosa</i> (Golubev, Gadanho, J.P. Samp. & N.W. Golubev) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	<i>Papiliotrema</i>	<i>Cryptococcus nemorosus</i>
<i>Papiliotrema rajasthanensis</i> (Saluja & G.S. Prasad) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes	Tremellales	Tremellaceae	<i>Papiliotrema</i>	
<i>Pichia fermentans</i> Lodder	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Pichia</i>	
<i>Pichia kluyveri</i> Bedford	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Pichia</i>	
<i>Priceomyces melissophilus</i> (Van der Walt & Klift) M. Suzuki & Kurtzman	Ascomycota	Saccharomycetes		Debaryomycetaceae	<i>Priceomyces</i>	
<i>Pseudozyma</i> sp.	Basidiomycota	Ustilaginomycetes	Ustilaginales	Ustilaginaceae	<i>Pseudozyma</i>	
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (A. Jörg.) F.C. Harrison	Basidiomycota	Microbotryomycetes		Sporidiobolaceae	<i>Rhodotorula</i>	

<i>Rhodotorula paludigena</i> (Fell & Tallman) Q.M. Wang, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Microbotryomycetes		Sporidiobolaceae	<i>Rhodotorula</i>	
<i>Rhodotorula taiwanensis</i> F.L. Lee & C.H. Huang	Basidiomycota	Microbotryomycetes		Sporidiobolaceae	<i>Rhodotorula</i>	
<i>Saccharomyces bayanus</i> Sacc.	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Saccharomyces</i>	
<i>Saitozyma flava</i> (Saito) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes		Trimorphomycetaceae	<i>Saitozyma</i>	
<i>Sporidiobolus ruineniae</i> Holzschu, Tredick & Phaff	Basidiomycota	Microbotryomycetes		Sporidiobolaceae	<i>Sporidiobolus</i>	
<i>Starmerella apicola</i> (Hajsig) C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	<i>Candida apicola</i>
<i>Starmerella bombi</i> (Montrocher) C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	<i>Candida bombi</i>
<i>Starmerella bombicola</i> C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	
<i>Starmerella powellii</i> C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	<i>Candida powellii</i>
<i>Starmerella etchellsii</i> (Lodder & Kreger-van Rij) C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	<i>Candida etchellsii</i>
<i>Starmerella sorbosivorans</i> (S.A. James, C.J. Bond & I.N. Roberts) C.A. Rosa & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	<i>Candida sorbosivorans</i>
<i>Starmerella sp.</i>	Ascomycota	Saccharomycetes		Saccharomycetaceae	<i>Starmerella</i>	
<i>Sydowia eucalypti</i> (Verwoerd & du Plessis) Crous	Ascomycota	Dothideomycetes		Dothioraceae	<i>Sydowia</i>	
<i>Sympodiomyopsis paphiopedili</i> Sugiy., Tokuoka & Komag.	Basidiomycota	Exobasidiomycetes		Microstromataceae	<i>Sympodiomyopsis</i>	
<i>Ustilago sp.</i>	Basidiomycota	Ustilaginomycetes		Ustilaginaceae	<i>Ustilago</i>	
<i>Ustilago sparsa</i> Underw.	Basidiomycota	Ustilaginomycetes		Ustilaginaceae	<i>Ustilago</i>	
<i>Vishniacozyma taibaiensis</i> Yurkov	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Vishniacozyma</i>	
<i>Vishniacozyma victoriae</i> (M.J. Montes, Belloch, Galiana, M.D. García, C. Andrés, S. Ferrer, Torr.-Rodr. & J. Guinea) Xin Zhan Liu, F.Y. Bai, M. Groenew. & Boekhout	Basidiomycota	Tremellomycetes		Tremellaceae	<i>Vishniacozyma</i>	<i>Cryptococcus victoriae</i>

<i>Wickerhamiella natalensis</i> C. Vega, Albaladejo & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Trichomonascaceae	<i>Wickerhamiella</i>	
<i>Wickerhamiella nectarea</i> C. Vega, Albaladejo & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Trichomonascaceae	<i>Wickerhamiella</i>	
<i>Wickerhamiella occidentalis</i> Lachance, C.A. Rosa, Starmer, Schlag-Edl., J.S.F. Barker & J.M. Bowles	Ascomycota	Saccharomycetes		Trichomonascaceae	<i>Wickerhamiella</i>	
<i>Wickerhamiella parazyza</i> (Lachance) C. Vega & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Trichomonascaceae	<i>Wickerhamiella</i>	<i>Candida parazyza</i>
<i>Wickerhamiella versatilis</i> (Etchells & T.A. Bell) de Vega & Lachance	Ascomycota	Saccharomycetes		Trichomonascaceae	<i>Wickerhamiella</i>	<i>Candida versatilis</i>

Tabla 1. Compilación de especies de levadura encontradas en el néctar.